

Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus*) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*

Rina Rostiana¹, Muhammad I. Kahtan², Sari Rahmayanti³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

² Departemen Pre Klinik Parasitologi Medik, Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

³ Departemen Pre Klinik Mikrobiologi Medik, Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit endemik di Indonesia yang disebabkan oleh virus dengue. Pencegahan penyakit ini dapat dilakukan dengan cara mengurangi populasi vektor utama penyebaran virus dengue, yaitu *Aedes aegypti*. Daun kesum mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang berpotensi sebagai biolarvasida. **Metodologi.** Ekstrak metanol daun kesum disiapkan dalam tujuh konsentrasi berbeda, yaitu 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3% dan 3,5%. Larutan aquades dan temefos digunakan sebagai kontrol negatif dan kontrol positif. Hewan uji yang digunakan adalah larva instar III/IV *Aedes aegypti*. Kematian larva dalam waktu 24 jam dihitung dan dilakukan analisis data. **Hasil.** Persentase kematian larva yang dihasilkan oleh ekstrak metanol daun kesum konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3% dan 3,5% secara berturut-turut adalah 7%, 10%, 19%, 23%, 26%, 37,6% dan 54%. Persentase kematian larva pada kontrol negatif sebesar 0%, sedangkan pada kontrol positif sebesar 100%. Terdapat perbedaan bermakna antara kematian larva yang ditimbulkan oleh berbagai kelompok konsentrasi ekstrak metanol daun kesum dengan kontrol positif. **Kesimpulan.** Ekstrak daun kesum dalam berbagai konsentrasi memiliki aktivitas sebagai larvasida *Aedes aegypti*, namun belum lebih efektif dibandingkan dengan temefos.

Kata kunci: larvasida, daun kesum, *Aedes aegypti*

Abstract

Background. Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an endemic disease in Indonesia caused by the dengue virus. This disease can be prevented by reducing the population of the main vectors of dengue virus, *Aedes aegypti*. Kesum leaves contain secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins and tannins that have potential as biolarvasida. **Method.** The methanol extract of kesum leaves was prepared in seven different concentrations, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3% and 3.5%. Aquades and temefos was used as a negative control and a positive control. The animals used in this study were instar larvae III / IV *Aedes aegypti*. The death of the larvae within 24 hours were calculated and analyzed. **Result.** The percentage of larval mortality produced by the methanol extract of kesum leaves concentration of 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3% and 3.5% were 7%, 10 %, 19%, 23%, 26%, 37.6% and 54%. The percentage of larval mortality in the negative control was 0%, while in the positive control was 100%. There are significant differences percentage of larval mortality between groups of methanol extract of kesum leaves and a positive control. **Conclusion.** methanol extract of kesum leaves in different concentrations have larvicidal activity against *Aedes aegypti*, but less effective than temefos.

Keywords: larvicides, kesum leaves, *Aedes aegypti*

LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan negara tropis dengan berbagai penyakit endemik, salah satunya adalah Demam Berdarah Dengue (DBD). Penyakit endemik DBD ini merupakan suatu penyakit infeksi virus akut dengan gejala demam tinggi mendadak selama dua hingga tujuh hari, disertai perdarahan. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue yang penularannya melalui hospes perantara berupa *Aedes* spesies.¹

World Health Organisation (WHO) memperkirakan terdapat 50-100 juta kasus demam berdarah, serta 500.000 kasus DBD setiap tahunnya di dunia.² Angka kejadian penyakit DBD di Indonesia masih tinggi, terdapat 156.806 kasus penyakit DBD pada tahun 2010 dan dengan jumlah kematian 1.358 orang.³ Hingga pertengahan tahun 2013 terdapat 48.905 kasus DBD dan dengan angka kematian sebanyak 376 orang.⁴ Angka kejadian DBD di provinsi Kalimantan Barat juga tidak bisa dianggap ringan. Menurut data

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI), terdapat 18,24 per 100.000 kasus penduduk Kalimantan Barat mengalami DBD. Provinsi Kalbar berada pada posisi kelima dengan laju kematian / *Case Fatality Rate* (CFR) tertinggi pada tahun 2013.⁴

Pencegahan penyebaran penyakit DBD dapat dilakukan dengan cara mengurangi populasi vektor utama yaitu *Aedes aegypti*. Upaya pengendalian ini dapat dilakukan melalui kegiatan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN), yaitu dengan melakukan gerakan 3 M plus (menguras, menutup, mengubur, plus menghindari gigitan nyamuk serta menaburkan bubuk larvasida). Keberhasilan kegiatan PSN dapat diukur dengan melakukan Pemeriksaan Jentik Berkala (PJB) melalui indikator Angka Bebas Jentik (ABJ).⁴ Angka Bebas Jentik di Kota Pontianak pada tahun 2013 telah mencapai 69%, namun angka ini belum memenuhi target nasional yaitu sebesar 95%.^{4,5}

Beberapa jenis larvasida sintetis yang banyak dijumpai dalam masyarakat, yaitu temefos/abate, *dieldrin* dan *piretrum*. Efek penggunaan larvasida sintetis secara berulang dan terlalu sering dapat menimbulkan permasalahan lingkungan.⁶ Permasalahan lingkungan yang terjadi dikarenakan kandungan temephos (abate) seperti *Tetramethyl Thiodi*, *P-Phenylene*, *Phosphorothioate* 1% dan *inert ingredient* 99% yang dapat bersifat racun jika digunakan terlalu lama.⁷ Sehingga perlu adanya upaya alternatif dalam pemberantasan jentik nyamuk penyebab DBD ini, yaitu dengan cara menghasilkan larvasida berbahan dasar alami atau biasa disebut dengan biolarvasida.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai biolarvasida adalah daun kesum. Daun Kesum (*Polygonum minus*) merupakan tanaman khas Kalimantan Barat yang memiliki aroma yang tajam dan khas. Tanaman kesum sering dijumpai di daerah Kalimantan Barat dan sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai

pelengkap masakan khas yaitu bubur pedas, botok ikan ataupun pindang ikan. Secara empiris rebusan daun kesum sering digunakan masyarakat untuk mengobati masalah pencernaan, menghilangkan ketombe di kepala dan sebagai minuman setelah bersalin.⁸ Hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh Michael menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol daun kesum mengandung senyawa alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, steroid-triterpenoid serta saponin.⁹ Senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan saponin telah terbukti memiliki efek menghambat pertumbuhan larva nyamuk dengan cara menghambat hormon pertumbuhan, mencegah pelepasan enzim pencernaan, mengganggu sistem pernapasan serta merusak susunan membran dari larva.¹⁰

Berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun kesum dan belum terdapatnya penelitian yang memanfaatkan daun kesum sebagai larvasida alami, maka penelitian ini dilakukan untuk melihat efek larvasida

yang dihasilkan oleh daun kesum (*Polygonum minus* Huds.).

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dalam bentuk *post test only control group design* yaitu desain penelitian yang tidak menggunakan pengujian awal sebelum dilakukannya perlakuan terhadap sampel.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *blender*, timbangan, peralatan maserasi, batang pengaduk kaca, *rotary evaporator*, desikator, corong pisah, botol kaca gelap, neraca analitik, pipet tetes, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, gelas beker, kain kasa, kertas saring, *aluminium foil*, wadah penetasan telur, gelas *erlenmeyer*, termometer, kertas lakmus.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kesum,

metanol (teknis), akuades, larva *Aedes aegypti* instar III/IV, *fish food*; pereaksi Meyer, HCl, HCl pekat, logam Mg, FeCl₃, kloroform, temefos 1% SG, *Carboxymethylcellulose* (CMC).

Pengambilan Sampel

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kesum yang diperoleh dari perkebuan Jalan Sungai Raya Dalam, Gang Raya 7, Pontianak, Kalimantan Barat dan diambil pada pagi hari pukul 08.00-10.00.

Pengolahan Sampel

Tanaman kesum yang telah terkumpul dipisahkan antara daun dan tangkainya, kemudian daun dibersihkan dari kotoran dengan air bersih yang mengalir. Daun kesum yang telah bersih dirajang, perajangan ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari daun, sehingga daun lebih cepat mengering. Daun kesum kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan pada suhu ruang. Setelah itu, sampel disortasi kering dan ditimbang berat keringnya.

Ekstraksi Daun Kesum

Proses ekstraksi yang digunakan adalah cara maserasi. Simplisia daun kesum yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam bejana kaca gelap. Simplisia daun kesum direndam dengan pelarut etanol teknis. Simplisia daun kesum yang telah halus dimasukkan ke dalam bejana gelap. Proses awal maserasi dengan mencampurkan simplisia daun kesum dengan pelarut metanol hingga terendam di dalam bejana, ditutup dan didiamkan selama 24 jam sambil berkali-kali diaduk pada 6 jam pertama. Maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ditampung dalam botol kaca kemudian di maserasi kembali hingga 5 hari dengan dilakukan pengadukan beberapa kali sehari dan terlindung dari cahaya. Hasil maserasi dikumpulkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan 122 rpm. Lalu dilanjutkan dengan menggunakan penangas air pada suhu 50°C hingga

diperoleh ekstrak kental metanol daun kesum.¹¹

Uji Metabolit Sekunder Ekstrak

Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol daun kesum dilarutkan dengan 2 mL HCl, kemudian disaring. Setelah disaring, tambahkan 2 tetes reagen Mayer. Adanya alkaloid pada ekstrak ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kuning.¹²

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol daun kesum dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan serbuk Mg sebanyak 1 gram dan larutan HCl pekat. Adanya flavonoid pada ekstrak ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada larutan menjadi berwarna kuning.¹³

Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol daun kesum ditambahkan dengan air suling panas, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Adanya saponin dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya busa yang menetap selama 10 menit dan tidak

hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N.¹⁴

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol daun kesum dilarutkan dalam 5 mL air panas, kemudian filtrat disaring dan ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menandakan adanya kandungan tanin pada ekstrak.¹⁴

Uji Steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol daun kesum ditambahkan dengan 2 mL kloroform dan 1 mL H₂SO₄. Terbentuknya warna merah pada lapisan bawah kloroform menandakan adanya steroid dalam ekstrak. Terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan, menandakan adanya kandungan tripenoid pada ekstrak.¹⁴

Persiapan Hewan Uji

Telur *Aedes aegypti* yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Surabaya ditetaskan menjadi larva dengan cara mencelupkan kertas

saring ke dalam nampan plastik yang berisi air. Setelah 24 jam telur akan menetas dan menjadi larva *Aedes aegypti*. Larva akan diberi makan *fish food*. Larva yang telah tumbuh menjadi instar III/IV kemudian akan digunakan sebagai sampel pada tahap uji larvasida.¹³

Uji Aktivitas Larvasida

Sebanyak 100 mL akuades serta larva nyamuk yang sudah mencapai instar III atau IV dimasukkan ke dalam tiap sembilan kontainer yang berbeda. Jumlah larva yang dimasukkan ke dalam tiap-tiap kontainer adalah 25 ekor. Sembilan kontainer ini terdiri dari dua kelompok yang berbeda, yaitu tujuh kontainer untuk kelompok perlakuan dan dua kontainer untuk kelompok kontrol. Kelompok kontrol terdiri kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Larva pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan akuades dan *fish food*. Sedangkan pada kelompok kontrol positif larva diberikan *fish food* dan juga temefos/abate yang merupakan bubuk larvasida yang biasa digunakan

dalam masyarakat. Kelompok perlakuan merupakan kelompok yang diberikan ekstrak metanol daun kesum dalam berbagai konsentrasi. Terdapat tujuh kelompok perlakuan dengan tujuh konsentrasi yang berbeda, yaitu 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 % dan 3,5 %.

Dilakukan pengulangan pengujian baik terhadap kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dilakukan sebanyak empat kali. Perhitungan mortalitas larva dilakukan setelah 24 jam terpajan bahan uji. Hasil akhir akan dicatat dan dianalisa.²

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kesum

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan pelarut metanol teknis. Hasil rendaman daun kesum dengan pelarut metanol yang telah disaring didapatkan sebanyak 5 L. Hasil maserasi yang dievaporasi sebanyak 3,3 L, sehingga didapatkan ekstrak metanol daun kesum

sebanyak 18,47 gram dengan rendemen sebesar 7,12%. Pemeriksaan susut pengeringan ekstrak sebesar 15,64%, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak termasuk dalam ekstrak kental. Ekstrak dibuat menjadi larutan stok dengan konsentrasi 5%, yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi perlakuan sebesar 3,5%, 3%, 2,5%, 2%, 1,5%, 1% dan 0,5%.

Uji Metabolit Sekunder

Hasil uji metabolit sekunder menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol daun kesum mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

Uji Aktivitas Larvasida

Uji larvasida dilakukan pada larva *Aedes aegypti* instar III/IV dengan menggunakan berbagai konsentrasi. Sebelum dan sesudah pengujian dilakukan pengukuran suhu dan pH pada setiap medium uji, yang mana didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan suhu dan pH sebelum dan sesudah pengujian antara

kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan

Mortalitas kematian larva *Aedes aegypti* diamati selama 24 jam setelah pemberian ekstrak metanol daun kesum dan dilakukan replikasi sebanyak empat kali. Larva yang dihitung meliputi larva yang mati dan larva yang hampir mati. Larva yang mati adalah larva yang saat diperiksa dengan jarum di bagian *siphon* dan servikalnya tidak menunjukkan adanya pergerakan. Sedangkan larva yang hampir mati merupakan larva yang tidak mampu untuk berenang muncul ke permukaan atau tidak menampilkan reaksi menyelam menuju dasar wadah ketika air diganggu (WHO, 2005). Hasil pengamatan mortalitas larva menunjukkan peningkatan yang sebanding antara mortalitas larva dengan konsentrasi yang digunakan

Hasil uji normalitas data uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok konsentrasi terdistribusi normal. Data juga diuji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*, didapatkan nilai

$p = 0,001$ ($p < 0,05$), sehingga dapat dikatakan bahwa data tidak homogen. Oleh karena data yang didapatkan tidak homogen, maka uji hipotesis yang dipilih adalah uji *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk mengetahui kelompok apa saja yang memiliki perbedaan yang signifikan, hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa seluruh kelompok konsentrasi memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif.

Untuk mengetahui korelasi antara dua variabel dalam penelitian dilakukan uji *Spearman*. Hasil uji *Spearman* menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara konsentrasi ekstrak metanol daun kesum dan mortalitas larva *Aedes aegypti* ($r = 0,918$, $p = 0,000$). Hasil uji *Spearman* ini juga membuktikan bahwa

hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol daun kesum dan mortalitas larva *Aedes aegypti* merupakan hubungan searah. Hasil ini menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun kesum maka semakin tinggi mortalitas larva *Aedes aegypti* yang terjadi.

Berdasarkan hasil pengujian didapatkan bahwa mortalitas larva bukan terjadi akibat tempat hidup larva yang tidak sesuai, namun karena dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun kesum. Senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak metanol daun kesum adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa-senyawa metabolit tersebut diperkirakan memiliki peran dalam menyebabkan mortalitas larva dengan mekanisme sebagai berikut.

a. Alkaloid

Kandungan alkaloid pada daun kesum bekerja dengan menghambat hormon pertumbuhan larva yang mengakibatkan larva tidak dapat

melakukan metamorfosis dan menyebabkan kematian akibat penurunan generasi nitrat yang berguna untuk sintesis protein, menekan penyaluran sukrosa ke usus halus dan bekerja pada sistem saraf pusat.¹⁰

b. Flavonoid

Flavonoid berperan sebagai inhibitor pernapasan pada larva. Senyawa ini akan masuk melalui saluran pernapasan larva, hal ini menimbulkan kelemahan saraf dan kerusakan pada saluran napas yang mengakibatkan larva tidak dapat bernapas. Larva akan mensejajarkan posisi tubuhnya dengan permukaan air untuk mendapatkan oksigen, hal ini diakibatkan kerusakan pada *siphon* larva yang terjadi karena masuknya senyawa flavonoid tersebut melalui *siphon*. Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim asetilkolinesterase, yang mana enzim ini berfungsi dalam pemecahan asetilkolin menjadi asetil ko-A dan

kolin pada impuls sel saraf. Karena penghambatan enzim asetilkolinesterase ini mengakibatkan penumpukan asetilkolin yang akan menyebabkan terjadinya gangguan pada sistem penghantar impuls dari sel saraf ke sel otot, sehingga terjadi kejang pada otot, paralisis dan berakhir pada kematian.¹⁵

c. Saponin

Saponin yang tertelan akan masuk melalui sistem pencernaan larva. Pada sistem pencernaan senyawa ini bekerja dengan menurunkan aktivitas enzim protease dan penyerapan makanan, hal ini mengakibatkan larva kekurangan energi untuk pertumbuhan sehingga pertumbuhan larva akan terhambat dan mengalami kematian.¹⁶ Selain itu, saponin juga bekerja dengan mengikat sterol bebas dalam pencernaan makanan, yang mana sterol berperan sebagai prekursor hormon edkinson. Hormon tersebut berperan dalam

merangsang pertumbuhan dan menyebabkan epidermis menyekresikan suatu kutikula baru yang menyebabkan terjadinya proses pengelupasan kulit (*molting*), sehingga proses pergantian kulit pada larva terganggu.¹⁷

d. Tanin

Terdapat dua cara senyawa tanin dapat memasuki tubuh larva, yaitu dengan menembus dinding tubuh larva dan masuk melalui saluran pencernaan. Senyawa tanin yang masuk dengan cara menembus dinding tubuh larva ini akan mengakibatkan terjadinya kelemahan otot gerak pada larva. Sedangkan pada sistem pencernaan, tanin bekerja dengan membentuk ikatan dengan enzim pencernaan dan menyebabkan inaktivasi pada enzim tersebut. Enzim pencernaan yang diketahui dapat berinteraksi dengan tanin adalah tripsin, kimotripsin, lipase, pektin esterase, selulase, α -amilase, dan β -galaktosidase. Hal ini

mengakibatkan terganggunya proses pemecahan dan penyerapan berberapa substrat penting seperti lipid, protein dan karbohidrat pada tubuh larva. Proses ini kemudian akan mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva.^{18,19}

KESIMPULAN

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun kesum adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.
2. Terdapat hubungan yang sebanding antara konsentrasi ekstrak metanol daun kesum dengan mortalitas larva, yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak metanol daun kesum yang digunakan maka semakin besar pula mortalitas larva.
3. Ekstrak metanol daun kesum pada konsentrasi 0,5% hingga 3,5% memiliki aktivitas sebagai larvasida, namun belum lebih efektif jika

dibandingkan dengan kontrol positif yaitu temefos/abate.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agoes. Teknologi Bahan Alam, Serial Farmasi Industri-2, Edisi Revisi, Bandung : Penerbit ITB; 2009.
2. World Health Organization (WHO). Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides; 2005.
3. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia; Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue. Jakarta: Bakti Husada; 2011.
4. Ditjen PP & PL Kemenkes RI. Situasi Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Kementrian Kesehatan RI; 2013.
5. Dinas Kesehatan Pontianak. Rencana Strategis Dinas Kesehatan Kota Pontianak Tahun 2015-2019. Dinas Kesehatan Kota Pontianak; 2014.
6. Penghiyangani, Roselina., Efek Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* val.) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti* Vektor Penyakit Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue di Kota Banjarbaru; 2012 (4)1:1-6.
7. Kristina, Isminah, Wulandari L. Demam Berdarah Dengue Epidemiologi dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Jakarta; 2004.
8. Globinmed. Kesum; 2010.
9. Michael. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) terhadap Peningkatan Kadar Kreatinin dan Ureum Serum Tikus Putih Galur Wistar Terinduksi Sisplatin. Pontianak: Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran (Skripsi); 2013.
10. Utomo M, Amaliah S, Suryati FA. Daya Bunuh Bahan Nabati Serbuk Biji Papaya Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti* Isolat Laboratorium B2P2VRP, Pros. Semin. Nas, Unimus, Salatiga. 2010:152–158
11. Harborne, J.B. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung; 2006.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sediaan Galenik. Jakarta; 1986:5.
13. Sastroasmoro, Sudigdo, Ismael S. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis, Edisi Keempat. Jakarta: Sagung Seto. 2011: 88-103; 298-323.
14. Tiwari, Prashant, Kumar, Bimlesh, Kaur, Mandeep, Kaur, Gurpreet; and Kaur, Harleen.

- Phytochemical Screening and Extraction, Internationale Pharmaceutica Sciencia; 2011
15. Rattan, RS. Mechanism of Action of Insecticidal Secondary Metabolites of Plant Origin, Crop Protection; 2010 (29): 913-920.
 16. Geyter, ED, Lambert E, GeelenD, Smagghe G. Novel Advances with Plant Saponins as Natural Insecticides to Control Pest Insects. Pest Technology; 2007. 1(2): 96-105
 17. Lukman, Aprizal. Peran Hormon dalam Metamorfosis Serangga. *Biospesies*, ; 2009. 2 (1): 42-45.
 18. Souza AP, Marques MR, Mahmoud TS, Bolzani VS, Caputo BA, Canhete GM, Leite CB, De Lima DP. Insecticidal Effect of Extracts from Native Plants to Mato Grosso do Sul, Brazil, on *Sitophilus zeamais* Mots. (*Coleoptera: Curculionidae*). *BioAssay*; 2010. 5(1): 2-3
 19. Tiwari BK, Singh N. *Pulse Chemistry and Technology*. Royal Society of Chemistry, Cambridge; 2012: 61-62.